基于 SSR 标记的大明松天然群体遗传多样性分析

罗群凤，冯源恒，吴东山，杨章旗*

（广西壮族自治区林业科学研究院，国家林业局马尾松工程技术研究中心，

广西马尾松工程技术研究中心，南宁 530002）

摘要：大明松是分布在广西、贵州特有的高山松类，具有很高的经济价值和生态价值，其自然种群长期没有得到充分的保护和利用，不利于该树种长期稳定发展。为了合理保护和开发利用大明松天然遗传资源，该文利用 12 个 SSR 分子标记对大明松 3 个天然群体进行遗传多样性研究，分析其群体间的遗传分化和基因流，为该物种的保护策略提供参考。研究结果表明：12 对引物共检测到 37 个等位基因，多态位点百分率为 100%，每个位点平均观察等位基因数（*Na*）为 3.08，平均有效等位基因数（*Ne*）为 1.68，不同位点间有效等位基因数差异较大。每个位点平均观察杂合度（*Ho*）为 0.35，平均期望杂合度（*He*）为 0.40，平均多态信息含量（PIC）为 0.31。3 个群体的 Shannon's 多样性指数变化范围为 0.48~0.65，Nei's 基因多样度的变化范围为 0.27～0.39，与其它近缘种松类相比遗传多样性偏低。群体平均观察杂合度为 0.40，平均期望杂合度为 0.33，平均有效等位基因数为 1.58。群体间基因分化系数（*Gst*）为 0.10，群体间的遗传分化水平较低，大部分变异均存在群体内。群体间的基因流（*Nm*）为 2.74，说明大明松群体间的基因交流比较充分。该研究可为大明松生物多样性保护提供重要参考依据，为科学利用大明松资源打下基础。

关键词：大明松，天然群体，遗传多样性，遗传分化，SSR 分子标记

中图分类号：Q347　　**文献标识码：**A　　　文章编号：

Genetic diversity of *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis* natural populations by SSR markers

LUO Qunfeng[1]，FENG Yuanheng[1]，WU Dongshan[1]，YANG Zhangqi[1*]

(1. *Guangxi Institute of Forestry Science, Masson Pine Engineering Technology Research Center of SFA (State Forestry Administration), Masson Pine Engineering Technology Research Center of Guangxi* ,

Nanning 530002,China)

Abstract: *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis* is a kind of endemic Alpine pine of Guangxi and Guizhou, which has high economic and ecological value. Its natural population has not been fully protected and utilized for a long time, which is not conducive to long-term stable

收稿日期：2021-02-09

基金项目：院士后备专项/广西科技基地和人才专项（桂科 AD19254004）；八桂学者专项；广西科学研究与技术开发计划项目（桂科能 1598025-43）[Supported by Academician Reserve Project/Guangxi Science and Technology Project(GuikeAD19254004); Special Fund for BaGui-Scholar; Guangxi Scientific Research and Technology Development Project (GuikeNENG1598025-43)]。

作者简介：罗群凤(1987 -)，硕士研究生，工程师，主要从事林木遗传育种研究，（E-mail）lqf20060388@163.com。

***通信作者：**杨章旗，博士研究生，教授级高级工程师，主要从事林木遗传育种研究，（E-mail）yangzhangqi@163.com。

development of this species. In order to protect and exploit the natural genetic resources of *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*, 12 SSR markers were used to study the genetic diversity of three natural populations of *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*, and to analyze the genetic differentiation and gene flow among populations, so as to provide reference for the protection strategy of this species. The results were as follows: 37 alleles were detected by 12 pairs of primers, and the percentage of polymorphic loci was 100%. For every site, the average number of observed alleles (*Na*) was 3.08, and the average number of effective alleles (*Ne*) was 1.68. The number of effective alleles varied greatly among different loci. The average observed heterozygosity (*Ho*) was 0.35, the average expected heterozygosity (*He*) was 0.40, and the average polymorphism information content (PIC) was 0.31 for every site. The Shannon's diversity index of the three populations ranged from0.48 to 0.65, and the Nei's gene diversity ranged from0.27 to 0.39. Compared with other related species of pines, the genetic diversity was low. For each population, the average observed heterozygosity was 0.40, and the average expected heterozygosity was 0.33， the average number of effective alleles was 1.58. The genetic differentiation coefficient (*Gst*) among populations was 0.10. Most of the variation existed in the population and the genetic differentiation level among populations was low. The range of gene flow (*Nm*) was 2.74, indicating that gene exchange between populations was sufficient of *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*. This study can provide an important reference for the protection of biodiversity, and lay a foundation for the scientific utilization of *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*.

Key words: *Pinus taiwanensis* var. *Damingshanensis,* natural population, genetic diversity, genetic differentiation, SSR molecular marker

大明松（*Pinus taiwanensis*）为松科（Pinaceae）松属（*Pinus*）植物，因 1974 年首次在广西大明山发现而得名，1975 年由中国裸子植物分类学家郑万钧、傅立国等鉴定并发表于《植物分类学报》(郑万钧等，1975)。它是黄山松（*Pinus taiwanensis*）在我国西南分布区的一个变种（中国科学院中国植物志编辑委员会，1978；梁盛业，1994），它们之间的区别在于大明松叶内兼有中生与边生树脂道，而黄山松只有中生树脂道(樊国盛和薛纪如，1993)。大明松主要分布于广西、贵州海拔 1 000 m 以上的高山，自南向北分别是广西的大明山、大瑶山、银竹老山以及贵州的雷公山、云台山、梵净山、大沙河等地，总体呈不连续点状分布。大明松喜光，适应凉爽、空气湿度较大的高山气候，在土层深厚、排水良好的酸性土及向阳山坡生长良好，耐瘠薄，但生长迟缓。大明松材质坚实，富含树脂，可制作家具、器具、板材等，也可作建筑、矿柱及木纤维工业原料等，为西南高海拔地区重要的用材造林树种，且其树形姿态优美，亦是重要的景观树种。

由于长期被人们忽视，大明松没有被系统的利用与保护，种群分布状况、遗传多样性水平、自然更新能力都缺乏系统、针对性的调查与研究。目前对大明松的研究报道很少，仅贾婕等（2019）通过比较研究大明松、马尾松、细叶云南松、拉雅松的种实性状，分析了这 4 种松树的繁育对策及交配系统状况；冯源恒等（2019）对广西、贵州两省区的大明松种质资源进行调查，摸清了黔桂两省大明松种质资源的分布特征，但没有对其群体遗传多样性水平进行分析与评价。因此，急需对现存的大明松天然群体遗传资源进行多样性研究。

遗传多样性是生物群体长期进化的产物，是其生存适应和发展的前提。遗传多样性越高，遗传变异越丰富，对环境变化的适应能力就越强，对其进行研究有助于生物群体的保护与利用。目前，遗传标记是研究遗传多样性最常用的手段，其中 SSR（simple sequence repeat）标记是多态性最高，也是应用最广泛的遗传标记之一。周海兰等（2021）用 23 对 SSR 多态性引物对收集的 54 份油梨种质材料进行 PCR 扩增，分析了这些种质资源的遗传多样性和亲缘关系,。臧明月等（2021）利用 SSR 分子标记对白栎天然居群进行遗传多样性分析，为其

种质资源的合理开发与保护提供指导。陈罡等（2020）利用 10 对新开发的蒙古栎特异的核 SSR 分子标记，分析了辽宁省境内分布蒙古栎天然群体的遗传多样性水平。陈林杨等（2020）利用 SSR 分子标记技术对取自不同地方的 35 份柚种质资源进行遗传多样性分析，为柚资源的保护、品种鉴定及遗传改良提供借鉴与依据。

鉴于此，本文利用 SSR 分子标记对大明松天然群体开展遗传多样性研究，分析其多样性水平及遗传分化情况，将有力加强对稀有树种的保护力度，促进生物多样性保护与生态环境建设，为科学利用稀有松类资源打下坚实基础。因此，研究我国黔桂地区大明松天然群体遗传多样性具有重要理论和意义。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料包括 3 个天然群体，分别为广西大明山群体、贵州梵净山群体、贵州大沙河群体（表 1）。其中大明山群体（DM）取自广西大明山国家级自然保护区仙人台（108°25′54″～108°25′58″ E、23°30′12″～23°30′13″ N），属南亚热带湿润山地季风气候。无霜期 292~312 d，日照时间长，光热充足。夏湿冬干，干冷同期，湿热同季，气候垂直变化明显（冯源恒等，2019）。

梵净山群体（FJ）取自贵州梵净山国家级自然保护区棉絮岭（108°39′46″～108°39′52″ E、27°54′45″～27°54′46″ N），属中亚热带湿润山地季风气候。无霜期 270~278 d，相对湿度平均达 80%（冯源恒等，2019）。

大沙河群体（DS）取自贵州大沙河国家级自然保护区甑子岩（107°35′04″～107°35′09″ E、29°08′13″～29°08′22″ N），属北亚热带湿润季风气候。大沙河地形北高南低，最高海拔 1 939.9 m，最低海拔 560 m，平均海拔 1 400 m，相对湿度 88%（冯源恒等，2019）。

每个群体按照株距 30 m，采集 30 株以上样本。因大明山群体空间较小，仅采集到 26 株。将采集的针叶装入离心管，填充硅胶进行干燥处理，便于保存。

表 1 大明松群体样本信息

Table 1 Population sample information of *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*

群体名称 Group name	采样地点 Sampling location	采样数目 Sampling number	平均胸径 DBH(cm)	平均树高 Average height (m)	年均气温 Mean annual temperature (℃)	年降水量 Mean annual rainfall (mm)
DM	广西大明山 Guangxi Daming Mountain	26	18.46	6.10	12.4-19.7	2 630
FJ	贵州梵净山 Guizhou Fanjing Mountain	35	21.47	6.21	13.1-14.7	1 100～2 600
DS	贵州大沙河 Guizhou Dashahe	33	23.35	12.96	8.0-16.4	1 200～1 360

注：**DM**．大明山群体; **FJ**．梵净山群体; **DS**．大沙河群体。下同。

Note：**DM**. Daming Mountain group; **FJ**. Fanjing Mountain group; **DS**. Dashahe group. The same below.

1.2 方法

1.2.1 大明松 DNA 提取方法

采用改良的 CTAB 裂解—硅珠吸附法（Doyle & Doyle，1990）提取大明松针叶 DNA 并

纯化，通过琼脂糖凝胶电泳（1%浓度）抽样检测样本 DNA 质量，采用紫外分光光度计测定各样本 DNA 浓度，稀释至统一浓度后置于-20 ℃环境保存备用。

1.2.2 大明松 SSR 引物来源及 PCR 反应条件

研究所使用的 SSR 引物是根据马尾松基因组 DNA 测序所得序列设计开发获得（冯源恒等，2016），并使用 8 个大明松 DNA 样品进行引物筛选，选取主带清晰且有多态性的引物 12 对，用于本实验的群体遗传多样性研究。引物设计由上海捷瑞基因技术有限公司合成，Taq 酶、dNTPs 等也购自该公司。

PCR 反应体系为 10 μL：10 mmol•L^{-1} pH 8.0Tris-HCI，50 mmol•L^{-1} KCI，2.5 mmol•L^{-1} Mg^{2+}，0.2 mmol•L^{-1} dNTPs，2.5 pmol 引物，0.08 U Taq 聚合酶，10~20 ng DNA。扩增反应程序：94 ℃4 min；94 ℃15 s，55-60 ℃15 s，72 ℃30 s，25 cycles； 72 ℃延伸 20 min 结束 PCR 反应（冯源恒等，2016）。

将 PCR 扩增产物进行 8%聚丙烯酰胺凝胶电泳，并银染检测，实验方法参照杨章旗等（2014）的方法进行。

1.2.3 遗传多样性分析

SSR 条带判读参照参照杨章旗等（2014）的方法进行。获得 SSR 分型数据后，采用 POPGENE32 软件（Yeh et al., 1997）计算 12 个位点的下列遗传多样性参数：多态位点百分率（percentage of polymorphic loci，PPL）；多态信息含量（polymorphic information content, PIC）；观察等位基因数（observed number of alleles，*Na*）；有效等位基因数（effective number of alleles，*Ne*）（Hartl et al., 1989）；Shannon’s 信息指数（Shannon’s information index，*I*）（Shannon et al., 1949）；观察杂合度（observed heterozygosity，*Ho*）；期望杂合度（expected heterozygosity，*He*）（Nei et al., 1973）；Nei’s 基因多样度（*h*）。并基于上述参数进一步计算大明松群体的固定指数（*F*）、基因分化系数（*Gst*）和基因流（*Nm*）及遗传距离（*GD*）。

2 结果与分析

2. 1 基于种间通用性的大明松 SSR 引物筛选

根据引物筛选结果获得用于大明松遗传多样性检测的 SSR 引物 12 对。比较这 12 对引物在大明松和马尾松（冯源恒等，2016）群体间的观察等位基因数可知，大明松有 6 对引物的等位基因数比马尾松少，有 3 对引物与马尾松相同，只有 3 对引物的等位基因数比马尾松多，平均观察等位基因数大明松、马尾松分别为 3.08 和 3.50，说明马尾松在这些位点上具有更为丰富的遗传变异。

表 2 大明松与马尾松等位基因数比较

Table 2 Comparison of allelic number between *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis* and *Pinus massoniana*

树种 Species	PJ247	PF402	PF408	PF463	PF464	PF569	PF615	PF648	PF653	PF695	PF727	PF764
大明松 *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*	2.00	4.00	3.00	4.00	3.00	3.00	2.00	3.00	2.00	4.00	4.00	3.00
马尾松 *P. massoniana*	3.00	5.00	5.00	4.00	2.00	3.00	4.00	2.00	3.00	5.00	3.00	3.00

2. 2 大明松天然群体遗传多样性分析

12 对引物在 3 个群体 94 个样本中共检测到等位基因 37 个，多态位点百分率为 100%。12 个 SSR 位点平均观察等位基因数（*Na*）为 3.08，有效等位基因数（*Ne*）在 1.16 ~2.87 之间，平均为 1.68，不同位点间有效等位基因数差异较大。观察杂合度的值范围在 0.14～0.66 间，平均为 0.35；期望杂合度的值从 0.12～0.92，平均为 0.40，不同位点的杂合度也存在较

大差异。12 个 SSR 位点 Shannon's 指数（*I*）平均为 0.62，Nei's 多样性指数（*h*）平均为 0.35。多态信息含量（*PIC*）的值在 0.13～0.58 之间，平均为 0.31，最高为 PF695 位点，最低为 PF464 位点。

表 3 大明松天然群体的遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of natural populations of *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*

扩增位点 Amplified locus	观察等位基因数 *Na*	有效等位基因数 *Ne*	Shannon 信息指数 *I*	观察杂合度 *Ho*	期望杂合度 *He*	Nei 基因多样度 *h*	多态信息含量 *PIC*
PJ247	2.00	1.26	0.36	0.21	0.12	0.20	0.18
PF402	4.00	1.43	0.61	0.30	0.28	0.30	0.28
PF408	3.00	1.68	0.66	0.41	0.54	0.40	0.34
PF463	4.00	1.28	0.48	0.22	0.24	0.22	0.21
PF464	3.00	1.16	0.31	0.14	0.12	0.14	0.13
PF569	3.00	1.26	0.42	0.21	0.23	0.21	0.19
PF615	2.00	1.69	0.60	0.41	0.57	0.41	0.32
PF648	3.00	1.18	0.33	0.16	0.17	0.15	0.15
PF653	2.00	1.78	0.63	0.44	0.51	0.44	0.34
PF695	4.00	2.87	1.12	0.66	0.52	0.65	0.58
PF727	4.00	1.96	0.90	0.49	0.64	0.49	0.44
PF764	3.00	2.57	1.00	0.62	0.92	0.61	0.53
Mean	3.08	1.68	0.62	0.35	0.40	0.35	0.31

分别统计 3 个大明松群体的遗传多样性参数，比较群体间遗传多样性水平。3 个群体的的观察等位基因数高到低排序为：大沙河群体>梵净山群体>大明山群体。而 3 个群体的有效等位基因数（*Ne*）、期望杂合度（*He*）、Shannon's 多样性指数与 Nei's 基因多样度由高到低排序均为：大沙河群体>大明山群体>梵净山群体。说明大沙河群体遗传多样性最为丰富，其次为大明山群体，梵净山群体最低。

表 4 大明松天然群体间遗传多样性比较

Table 4 Comparison of genetic diversity among natural populationsof *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*

群体名称 Group name	观察等位基因数 *Na*	有效等位基因数 *Ne*	Shannon 信息指数 *I*	观察杂合度 *Ho*	期望杂合度 *He*	Nei 基因多样度 *h*
DM	2.33	1.57	0.49	0.40	0.30	0.29
FJ	2.67	1.47	0.48	0.32	0.28	0.27
DS	2.83	1.70	0.65	0.49	0.40	0.39
Mean	2.61	1.58	0.54	0.40	0.33	0.32

2.3 大明松群体遗传结构与基因流分析

大明松群体的平均 *Fit* 值为-0.16，平均 *Fis* 为-0.26，说明大明松群体偏离哈迪-温伯格平衡，表现出杂合子过剩现象。大明松群体固定指数（*Fst*）平均值为 0.08，群体间不存在明

显的遗传分化。基于 *Fst* 值计算大明松群体间基因流（*Nm*），*Nm* 值在不同位点的变化范围为 0.43～31.68，平均为 2.74，可知大明松 3 个群体间的基因交流比较充分。

通过分析大明松群体的遗传分化情况可得知（表 5），大明松群体内的遗传多样性占 87.64%，群体间遗传多样性占 12.36%；由 H 计算出的群体间的基因分化系数（*Gst*）为 0.10，而群体内基因多样性比值为 0.90。这表明，大明松群体间的遗传分化水平较低，大部分变异均存在群体内。

表 5 大明松群体遗传分化

Table 5 Genetic differentiation of *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*

指标 Index	Shannon 指数	指标 Index	Nei 指数
群体内遗传多样性 *Hpop*	0.54	群体内的基因多样性 *Hs*	0.32
群体总的遗传多样性 *Hsp*	0.62	群体总的基因多样性 *Ht*	0.35
群体内遗传多样性所占比值 *Hpop* /*Hsp*	0.88	群体内基因多样性所占比值 *Hs* /*Ht*	0.90
群体间遗传多样性所占比值(*Hsp* −*Hpop*) / *Hsp*	0.12	遗传分化系数 *Gst*	0.10

2.4 大明松天然群体遗传距离分析

大明松天然群体间遗传距离（*GD*＜0.077 0）偏小，且大明山和大沙河群体遗传距离相对较近（*GD*=0.026 9）；群体遗传一致度（*GI*＞0.925 9）较高（表 7）。

表 6 群体间的 Nei’s 遗传距离和遗传一致度

Table 6 Nei’s genetic distance and genetic identity between populations

群体名称 Group name	DM	FJ	DS
DM	****	0.925 9	0.973 5
FJ	0.077 0	****	0.928 4
DS	0.026 9	0.074 3	****

注：Nei’s 遗传距离（下三角）、遗传一致度（上三角）。

Note：Nei’s genetic distance（below diagonal）and genetic identity（above diagonal）.

3 结论与讨论

3.1 大明松总体遗传多样性评价

基于 12 个位点 37 个等位基因的遗传多样性结果显示，大明松天然群体观察等位基因数在 2.33~2.83 之间，平均为 2.61；观察杂合度和期望杂合度分别介于 0.32～0.49、0.28～0.40，平均分别为 0.40、0.33；Shannon 信息指数为 0.54，Nei’s 基因多样度为 0.32。而 Al-Rabab'ah & Williams（2002）研究火炬松（*Pinus taeda*）的观察等位基因数、观察杂合度、期望杂合度分别为 7.75、0.52、0.65，Mehes et al.（2009）研究白松（*Pinus monticola*）时的这三个值分别为 6.50、0.72、0.81，Karhu et al.（2006）研究辐射松（*Pinus radiata*）的观察等位基因数、观察杂合度分别为 8.19、0.73。与以上同属植物相比较，大明松群体各项指数都较低，遗传多样性水平偏低。

表 7 松属树种间遗传多样性参数比较

Table 7 Comparison of genetic diversity parameters among *Pinus* species

树种 species	观察等位基因数 *Na*	观察杂合度 *Ho*	期望杂合度 *He*
大明松 *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*	2.61	0.40	0.33

火炬松 *Pinus taeda*	7.75	0.52	0.65
白松 *Pinus monticola*	6.50	0.72	0.81
辐射松 *Pinus radiata*	8.19	0.73	——

另外，欧洲云杉（*Picea abies*）杂合度为 0.79（Pfeiffer et al., 1997），黄杉（*Pseudotsuga menziesii*）杂合度为 0.67（Amarasinghe et al., 2002），欧洲栓皮栎（*Quercus suber*）杂合度为 0.65（Hornero et al., 2001 ）。与以上不同属树种比较，大明松群体杂合度指数也较低。这可能与大明松片段化的地理分布特点有关。本次调查的 3 个大明松群体规模均较小，分布范围也相对狭小，不同群体间地理间隔大。因而其遗传变异水平低于火炬松、辐射松等种群规模且大面积连续分布的松类。另一方面，本研究采用的 SSR 引物是从马尾松基因组中开发的，种间通用性较好的分子标记其所在序列往往较为保守，从而导致标记的多态性较低。

3.2 大明松群体遗传结构特征

研究中发现大明松群体内的遗传变异（87.64%）要远远大于群体间的遗传变异（12.36%），群体间的遗传分化水平偏低，大部分变异均存在于群体内。群体间的基因流平均为 2.74，表明 3 个大明松群体之间基因交流比较充分。由于松树属于风媒传粉，花粉具有很强的远距离散播能力，因此，远距离地理隔离虽然对大明松群体间的基因交流具有一定的限制作用，但还未导致群体间明显的遗传分化。许玉兰等（2016）对云南松天然群体遗传多样性研究及武文斌等（2018）对油松群体遗传多样性研究时也得出近似结论。由此推论，大明松不同群体间的表型多样性差异在很多程度上是因环境差异形成的，在遗传水平还未发生明显分化。因此，大明松种质资源的选择、收集及保存策略，应以在各群体内选择、保存具有优良性状的单株为主。

研究中还发现大明松群体的观测杂合度大于期望杂合度，表现出杂合子过剩的现象，说明大明松群体可能发生过外来基因的迁入或渐渗。大明松与黄山松一样，都和马尾松是垂直方向的替代种（冯源恒等，2019）。而黄山松与马尾松间存在基因渐渗现象（罗世家等，2001；翟大才等，2018），因此，大明松极有可能与本区域内马尾松发生基因渐渗。

参考文献：

AL-RABAB'AH MA, WILLIAMS CG, 2002. Population dynamics of *Pinus taeda* L. based on nuclear microsatellites[J]. Forest Ecol Manage, 163(1-3): 263-271.

AMARASINGHE V, CARLSON JE, 2002. The development of microsatellite DNA markers for genetic analysis in Douglas-fir[J]. Can J For Res, 32(11): 1904-1915.

CHEN G, BU PT, YU SH, et al.，2020. Study on genetic diversity of natural *Quercus mongolica* populations in Liaoning province revealed by SSR Markers[J]. J Shenyang Agric Univ, 51(6): 727-733. [陈罡，卜鹏图，于世河，等，2020．基于SSR标记的辽宁蒙古栎天然群体遗传多样性研究[J]．沈阳农业大学学报，51(6) ：727-733.]

CHEN LY, LIU P, DONG RJ, 2020. Genetic diversity analysis of *Pomelo* resourses based on SSR molecular markers[J]. SW Chin J Agric Sci, 33(11): 2432-2438. [陈林杨，刘萍，董蓉娇，等，2020．基于SSR分子标记的柚资源遗传多样性分析[J]．西南农业学报，33(11)：2432-2438．]

DOYLE JJ, DOYLE JL, 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. Focus, 12(1): 13-15.

Editorial Committee of flora of China, Chinese Academy of Sciences, 1978. Flora of China: Volume 7[M]. Beijing: Science Press. [中国科学院中国植物志编辑委员会，1978．中国植物志：第 7 卷[M]．北京：科学出版社.]

FAN GS, XIE JR, 1993. Distributional characteristics of *pinus* L. in southeast Yunnan[J]. Guihaia, 13(4): 349-354. [樊国盛，薛纪如，1993．云南东南部松属植物分布的特点[J]．广西植物，13(4)：349-354．]

FENG YH, WU DS, YANG ZQ, et al.， 2019. Investigation of germplasm resources in four distribution areas of *Pinus taiwanensis* var. *damingshanensis*[J]. Guangxi For Sci, 48(2): 179-182. [冯源恒，吴东山，杨章旗，等，2019．大明松 4 个分布区种质资源调查[J]．广西林业科学，48(2)：179-182.]

FENG YH, YANG ZQ, LI HG, et al.，2016. A study on changes of genetic diversity for nearly 50 years in superior provenances of *Pinus massoniana* in Guangxi[J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed), 40(5): 41-46. [冯源恒，杨章旗，李火根，等，2016．不同时期广西马尾松优良种源的遗传多样性变化趋势[J]．南京林业大学学报（自然科学版），40(5)：41-46.]

HARTL DL, CLARK AG, 1989. Principles of population genetics[M]. 2nd ed Sinauer Associates, Sunderland, MA.

HORNERO J, GALLEGO FJ, MARTINEZ I, et al.， 2001. Testing the conservation of Quercus spp． microsatellites in the cork oak, *Q*． *suber* L[J]. Sil Gen, 50(3-4): 162-167.

JIA J, FENG YH, YANG ZQ，2019. Analysis of cone and seed traits of four pines in Guangxi and Guizhou[J]. Guangxi For Sci, 48(3): 281-284. [贾婕，冯源恒，杨章旗，2019．黔桂地区 4 种松类种实性状分析[J]．广西林业科学，48(3) ：281-284.]

KARHU A, VOGL C, MORAN GF, et al.， 2006. Analysis of microsatellite variation in *Pinus radiata* reveals effects of genetic drift but no recent bottlenecks[J]. Evol Biol, 19(1): 167-175.

LIANG SY, 1994. World pine list[J]. Guangxi For Sci, 23(3): 137-143.[梁盛业，1994．世界松树名录[J]．广西林业科学，23(3)：137-143.]

LUO SJ, ZHOU HY, LIANG SW, 2001.Study on the introgressive hybridization between *Pinus hwangshanensis* and *P. massoniana*[J]. Sci Silva Sin, (6): 118-122. [罗世家，邹惠渝，梁师文，2001．黄山松与马尾松基因渐渗的研究[J]．林业科学，(6)：118-122.]

MEHES M, NKONGOLO KK, MICHAEL P, 2009. Assessing genetic diversity and structure of fragmented populations of eastern white pine (*Pinus strobus*) and western white pine (*P. monticola*) for conservation management[J]. J Plant Ecol, 2(3): 143-151.

NEI M, 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 70(12): 3321-3323.

PFEIFFER A, OLIVIERI AM, MORGANTE M, 1997. Identification and characterization of microsatellite in Norway spruce (*Piceaabies* K.) [J]. Genome, 40(4): 411-419.

SHANNON CE, WEAVER W, 1949. The mathematical theory of communication[M]. University of Illinois Press, Urbana.

WU WB, HE KK, DI H, et al.， 2018.Genetic structure and geographic system of geographical population of *Pinus tabuliformis* mountain range based on SSR in Shanxi Province of northern China [J]. J Beijing For Uni, 40(10): 51-59. [武文斌，贺快快，狄皓，等，2018．基于 SSR 标记的山西省油松山脉地理种群遗传结构与地理系统[J]．北京林业大学学报，40(10)：51-59．]

XU YL, CAI NH, CHEN S, et al.， 2016. Relationships between the genetic diversity of *Pinus yunnanensis* Franch. natural populations and ecological factors [J]. Chin J Ecol, 35(7): 1767-1775. [许玉兰，蔡年辉，陈诗，等，2016．云南松天然群体遗传变异与生态因子的相关性[J]．生态学杂志，35(7)：1767-1775．]

YANG ZQ, FENG YH, WU DS, 2014. Analysis of genetic diversity of *Pinus yunnanensis* var. *tenuifolia* nature populations by SSR marker[J]. Guihaia, 34(1): 10-14. [杨章旗，冯源恒，吴东

山，2014．细叶云南松天然种源林遗传多样性的 SSR 分析[J]．广西植物，34(1)：10-14．]

YEH FC, YANG RC, BOYLE TB, et al.， 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis[M]. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.

ZANG MY, LI X, FANG YM, 2021. Genetic diversity analysis among natural populations of *Quercus fabri* based on SSR markers s[J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed), 45(1): 63-69. [臧明月，李璇，方炎明，2021．基于 SSR 标记的白栎天然居群遗传多样性分析[J]．南京林业大学学报(自然科学版) ，45(1) ：63-69．]

ZHAI DC, XUAN L, ZHOU Q, et al.，2018. Genetic introgression of *Pinus massoniana* and *Pinus taiwanensis* in Huangshan area based on SSR primers[J]. Mol Plant Breed, 16(14): 4614-4622. [翟大才，宣磊，周琦，等，2018．黄山地区马尾松和黄山松基于 SSR 标记的基因渐渗研究[J]．分子植物育种，16(14)：4614-4622．]

ZHENG WJ, FU LG, CHENG JR, 1975. Gymnosperms of China[J]. J Syst Evol, 13(4): 56-123. [郑万钧，傅立国，诚静容，1975．中国裸子植物[J]．植物分类学报，13(4)：56-123．]

ZHOU HL, LI SP, LI MF, et al.，2021. Analysis of genetic diversity of Avocado (*Pesea Americana* Mill.) germplasms with SSR molecular marker[J]. S Chin Fruits, 50(1): 31-37. [周海兰，李绍鹏，李茂富，等，2021．基于 SSR 分子标记的油梨种质遗传多样性分析[J]．中国南方果树，50(1) ：31-37．]